Aus dem Physiologischen Institut der Universität München
Direktor: Professor Dr. Broemser

Über den Abbau der Nucleinsäure

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde in der Zahnheilkunde

verfaßt und einer

Hohen medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Zonü Zoneff
Zahnarzt aus Rustschuk (Bulgarien)

München 1934
Universitäts-Buchdruckerei von Dr. C. Wolf & Sohn

Aus dem Physiologischen Institut der Universität München
Direktor: Professor Dr. Broemser

Über den Abbau der Nucleinsäure

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde in der Zahnheilkunde

verfaßt und einer

Hohen medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Zonü Zoneff
Zahnarzt aus Rustschuk (Bulgarien)

München 1934
Universitäts-Buchdruckerei von Dr. C. Wolf & Sohn

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

Referent:
Professor Dr. A. Hahn

Tag der mündlichen Prüfung:
30. Juni 1934

Meinen Eltern gewidmet!

Die Untersuchungen von M. Miescher im Laboratorium von Hoppe-Seyler führten im Jahre 1871 zur Entdeckung der Nucleine. In mühsamer Arbeit verschaffte sich Miescher aus den mit Eiter durchtränkten Verbänden der Chirurgischen Klinik Tübingen das Material, um die Kernsubstanzen der Eiterkörperchen chemisch zu untersuchen. Es gelang ihm, aus den Zellkernen einen Körper zu isolieren, der phosphorhaltig war und der nach seinen chemischen Eigenschaften nicht in die damals schon studierte Klasse der Lecithine eingereiht werden konnte. Miescher erkannte aus seinen analytischen Ergebnissen, daß dieser neue Körper ein Eiweißpaarling und daß das Eiweiß an der Säure verankert ist. Es gelang ihm, aus den Kernen eine eiweißfreie Säure darzustellen. Er bezeichnete diese Substanz als eiweißfreies Nuclein (Thannhauser).

Der Name Nucleinsäure für diese Gruppe von Substanzen stammt von Altmann und hat sich im physiologischen Sprachgebrauch bis heute erhalten.

Das nächste Ziel der Forschung war, diese aus Eiterkörperchen dargestellte neue Substanz in anderen Organen nachzuweisen. Die kernreichen Organe boten das beste Ausgangsmaterial. So wurden die roten Blutkörperchen der Vögel und Reptilien (Plosz), das Lachssperma (Miescher) auf ihren Gehalt an Nucleinsäuren untersucht.

Die Gruppierung und Einteilung der Nucleinsäure geschieht nach ihrer Herkunft aus dem Pflanzen- oder Tierreich in pflanzliche oder tierische Nucleinsäuren. Man kennt nur jeweils einen Typus von Polynucleotiden, deren typische Vertreter die Hefenucleinsäure für die pflanzlichen Polynucleotide und die Thymusnucleinsäure für die tierischen Polynucleotide ist. Nach heutigen Kenntnissen ist die Zusammensetzung aller tierischen Nucleinsäuren mit der Zusammensetzung der aus dem Thymus gewonnenen Nucleinsäure identisch. Es ist daher zweckmäßig, die Thymusnucleinsäure als gleichbedeutend mit tierischer Nucleinsäure zu setzen.

Es sei hier hervorgehoben, daß die pentosehaltigen Mononucleotide, Guanylsäure und Adenylsäure, die sich im tierischen Organismus, und zwar die erstere im Pankreas, die letztere im Muskel finden, nicht in die Gruppenbezeichnung „tierische Nucleinsäure“ für den Polynucleotidkomplex, als deren Prototyp die Thymusnucleinsäure gilt, vorbehalten bleiben soll.

Die Darstellung der Nucleinsäure aus Thymus und Pankreas, welche heute für die präparative Herstellung der tierischen Nucleinsäure das Ausgangsmaterial sind, und die Herstellung der Nucleinsäure aus Hefe, welche das Ausgangsmaterial für die Herstellung der pflanzlichen Nucleinsäure abgibt, ist erst viel später erfolgt (Levene, O. Schmiedeberg, Steudel).

Hier setzt das Werk Kossel's ein, der in umfangreichen Unter-

suchungen mit seinen Schülern die Bausteine der Nucleinsäure in analytischer Arbeit festlegte. Er konnte zeigen, daß in allen Nucleinsäuren drei verschiedene Gruppen präformiert sind: 1. stickstoffhaltige Substanzen, die der Gruppe der Purine und Pyrimidine zugehören; 2. eine Kohlehydratgruppe; 3. Phosphorsäure.

Jacobs, Levene machten es wahrscheinlich, daß die Verkettung dieser drei Gruppen im Molekül der Nucleinsäure sich in der Weise vollzieht, daß das Kohlehydrat mit seiner Aldehydgruppe glykosidartig am Purin oder Pyrimidin verankert ist, während an der endständigen Alkoholgruppe des Kohlehydrats die Phosphorsäure verestert ist.

Derartige einfache Nucleinsäurekomplexe, die aus Purin oder Pyrimidin, Kohlehydrat und Phosphorsäure zusammengesetzt sind, heißt Levene Nucleotide, die einfachen Komplexe Purin- oder Pyrimidinzucker nennt er Nucleoside. Die ursprünglichen, aus dem Zellkern gewonnenen „echten" Nucleinsäuren sind aus vier derartigen Nucleotidkomplexen aufgebaut, sie werden Polynucleotide genannt.

Hier sei schon hervorgehoben, daß ein wesentlicher Unterschied der pflanzlichen und tierischen Nucleinsäuren (Polynucleotide) darin besteht, daß die Kohlehydratgruppe in den pflanzlichen Polynucleotiden eine Pentose (Ribose), in den tierischen Polynucleotiden wahrscheinlich eine Hexose von noch unbekannter Konstitution ist. Die Unterscheidung von pflanzlichen und tierischen Nucleinsäuren durch die Kohlehydratgruppe trifft nur für die Polynucleotide zu. Es gibt im tierischen Organismus in einzelnen Organen auch Mononucleotide, die pentosehaltig sind (Guanylsäure, Adenylsäure). Diese pentosehaltigen Mononucleotide des tierischen Organismus dürften weniger für den Aufbau der tierischen Kernsubstanz von Bedeutung sein. Sie haben in den Organen, in welchen sie isoliert vorkommen (Pankreas, Muskel) eine noch unbekannte besondere Funktion.

Nach den neuesten Arbeiten (Thannhauser-Blanco) scheint es fraglich, ob das Molekül der tierischen Polynucleotide aus vier Mononucleotiden aufgebaut ist. Diese Autoren glauben auf Grund ihrer Versuche annehmen zu müssen, daß die Purine im Molekül der tierischen Polynucleotide nicht in Nucleotidbindung verankert ist.

Der Ausgangspunkt sämtlicher Versuche und Betrachtungen über die Konstitution der Nucleinsäuren sind die Arbeiten Steudel's, der, nachdem er die Zusammensetzung der drei Pyrimidinkörper Thymin, Zytosin und Urazil, zum Teil in Gemeinschaft mit A. Kossel, festgestellt hatte, systematische quantitative Versuche anstellte, um die Menge der einzelnen stickstoffhaltigen Komponenten in der Thymonucleinsäure zu bestimmen. Nachdem dies gelungen war und sich ergeben hatte, daß nur vier derartige Bausteine, Guanin, Adenin, Zytosin und Thymin sich am Aufbau der Thymonucleinsäure beteiligten, und zwar teilweise unter Besetzung der reduzierenden Gruppen der Kohlehydratkompenenten, war es möglich,

sich ein Bild von der Struktur der Thymonucleinsäure zu machen, das auch heute noch der beste Ausdruck unserer Kenntnisse dieses Körpers ist. Es ist kurz folgendes:

Guanin-Hexose-Phosphorsäure
Adenin-Hexose-Phosphorsäure
Zytosin-Hexose-Phosphorsäure
Thymin-Hexose-Phosphorsäure.

Es stellte sich nun bald heraus, daß diese Untersuchungen gerade an dem kompliziertesten Gebilde der Nucleinsäuregruppe unternommen waren. In zahlreichen Arbeiten, die durch die erfolgreichen Untersuchungen Steudel's angeregt waren, wurde bald gefunden, daß es außer der komplizierten Thymonucleinsäure noch eine Reihe einfacherer Nucleinsäuren gab.

Guanylsäure: Guanin-Pentose-(Ribose-)Phosphorsäure
Inosinsäure: Hypoxanthin-Ribose-Phosphorsäure
Adenylsäure: Adenin-Ribose-Phosphorsäure usw.

Endlich wurde in der Hefenucleinsäure ein Vertreter aufgefunden, der aus mehreren einfachen Nucleinsäuren locker zusammengesetzt ist.

Am übersichtlichsten sind die Spaltungsmöglichkeiten natürlich bei den einfachen Nucleinsäuren — Inosinsäure, Guanylsäure, Adenylsäure usw. — hier kann entweder das Molekül in seine drei Komponenten aufgespalten werden — Base, Pentose und Phosphorsäure —, daneben bestehen noch zwei andere Möglichkeiten: entweder wird nur die Base abgespalten, dann erhält man eine Pentosephosphorsäure oder es wird die Phosphorsäure abgetrennt und die Base bleibt mit der Pentose als Pentosid in organischer Bindung. Die Verhältnisse werden im Organismus insofern noch etwas komplizierter, als die Base sowohl als solche als auch in ihrer Pentosidbindung noch sekundären Veränderungen durch Fermente unterliegen kann. Diese Fermente kommen in den einzelnen tierischen Organen und bei den einzelnen Tierarten in verschiedener Stärke vor, so daß hierüber Kontroversen entstanden sind, die aber schließlich zur fast völligen Übereinstimmung der Beteiligten geführt haben.

Nach den Ausführungen von Jones unterscheidet man z. B. an Fermenten, die auf Hefenucleinsäure einwirken, folgende:

1. die Phospho-nuclease, die Phosphorsäure abspaltet;
2. die Purinnuclease, die die Purinbasen abspaltet;
3. die Guanase;
4. die Guanosindeaminase;
5. die Adenase;
6. die Adenosindeaminase.

Da nun auch die Purinpentoside hydrolytisch unter Bildung der freien Basen zerlegt werden können, kommen ferner in Betracht:

7. die Guanosin-hydrolase;
8. die Adenosin-hydrolase;
9. die Xanthin-hydrolase;
10. die Inosin-hydrolase.

Endlich können die durch Fermentwirkung entstandenen Oxypurine Xanthin und Hypoxanthin weiter zu Harnsäure oxydiert werden: diese Wirkung wird zugeschrieben

11. der Xanthinoxydase.

Bei der Aufzählung dieser verschiedenen Fermente ist die Gegenwart von Pyrimidinkörpern in der Hefenucleinsäure noch gar nicht berücksichtigt, so daß für deren Abbau die Liste der Fermente noch weiter vervollständigt werden müßte.

Die eigenartige Zusammensetzung der Nucleinsäuren aus stickstoffhaltigen Komponenten und aus Phosphorsäure hat dazu verleitet, sich zunächst fast ausschließlich mit dem Schicksal der stickstoffhaltigen Komponente als dem leicht greifbaren Teil des Moleküls, die außerdem wegen ihres großen klinischen Interesses im Vordergrunde stand, zu befassen. Die Hauptarbeit der Forscher galt bisher dem Schicksal der Nucleinbasen beim Abbau der Nucleinsäuren und eine Reihe von scharfsinnigen Untersuchungen haben uns hier ein kompliziertes Spiel einer ganzen Gruppe von Fermenten erkennen lassen, deren Endresultat der Abbau der Nucleinbasen in Harnsäure resp. Allantoin und Harnstoff ist (Rosenfeld).

Die Bedeutung der Nucleinsäuren im Organismus ist bisher nicht genügend gewürdigt worden. Man nahm allgemein an, daß der Phosphorsäurerest der Nucleinsäuren fest an das Eiweiß des Zellkerns verkettet ist. Diese Auffassung entbehrt bisher der Begründung. Nach Ansicht Thannhauser's dürfte man der Bedeutung der Nucleinsäuren im Organismus viel eher gerecht werden, wenn man sie in Analogie setzt zur Funktion der Kohlehydratphosphorsäuren. Kohlehydratphosphorsäuren sind überall da vorhanden, wo große energische durch chemische Umsetzungen vollbracht werden. Bei derartigen chemischen Reaktionen ist durch die Umsetzungsprodukte, die sich in ihrer Acidität und Alkalinität unterscheiden, ein außerordentlicher Wechsel der aktuellen Reaktion des Umsetzungsmilieus bedingt. Der Organismus verfügt über Puffersubstanzen, die eine momentane Veränderung der Reaktion an dem Ort der Umsetzung ausgleichen können.

Im Zellkern dürften die Stoffwechselvorgänge so außerordentlich vielseitig sein, daß eine besonders gute Pufferung nötig ist, um die Konstanz des Milieus aufrecht zu erhalten. Die Vorstellung, daß diese Pufferung durch die Nucleinsäuren des Zellkernes gewährleistet wird, würde den Zweck der Nucleinsäuren und ihrer basischen Anteile, der Purine und Pyrimidine, erklären können. Inwieweit den Purinen noch eine rein stoffliche Bedeutung zukommt, läßt sich heute noch nicht ermessen (Thannhauser).

Bei der Betrachtung der Veränderungen der Nucleine, im besonderen der Nucleinsäuren im Stoffwechsel, kann man nach zwei Gesichtspunkten vorgehen:

1. Welche Veränderungen erleiden die mit der Nahrung zugeführten Nucleinsubstanzen im Darm und im intermediären Stoffwechsel?

2. Welche Veränderungen erleiden die durch Zellmauserung endogen entstandenen Nucleine im intermediären Stoffwechsel (Thannhauser)?

Der Abbau der Nahrungsnucleine (exogener Nucleinstoffwechsel) bei Verdauung und Resorption.

Am Magen werden aus den Nucleoproteiden Teile des Eiweißkomplexes abgespalten. Nucleinsäuren dürften im Magensaft durch die Pepsinwirkung aus dem Eiweißpaarling nicht entstehen. Erst durch die tryptische Verdauung im Darm wird der ganze Eiweißkomplex von den Nucleoproteiden abgespalten und die Nucleinsäuren werden wahrscheinlich schon durch die alkalische Reaktion des Darmsaftes in lösliche Natriumsalze verwandelt.

Thannhauser-Dorfmüller konnten zeigen, daß aus der Hefenucleinsäure durch Verdauung mit menschlichem Duodenalsaft einfache Nucleinsäuren (Nucleotide) und noch ein größerer Komplex, den sie Triphosphornucleinsäure nannten, entstehen. Sollte sich durch weitere Untersuchungen erweisen, daß die Triphosphornucleinsäure kein einheitliches Individuum, sondern ein Gemisch von einfachen Nucleinsäuren ist, so ist doch durch ihren Verdauungsversuch mit menschlichem Duodenalsaft gezeigt, daß die Aufspaltung des pflanzlichen Polynucleotidmoleküls im Darm keine durchgreifende ist. Es entstehen demnach aus den pflanzlichen Nucleinsäuren im Darmsaft keine freien Purine, sondern nur lösliche, einfache Nucleotidkomplexe. Die leichte Wasserlöslichkeit der so entstandenen einfachen Nucleinsäuren macht es wahrscheinlich, daß sie als solche resorbiert werden. Von besonderer Wichtigkeit ist der von Jones geführte Nachweis eines thermostabilen Fermentes im tierischen Pankreas, welches die pflanzliche Nucleinsäure in Nucleotide spaltet. Versuche von Deutsch in der Klinik Thannhauser's konnten die Angaben von Jones über dieses merkwürdige thermostabile Ferment bestätigen.

Für die tierischen Nucleinsäuren fanden Thannhauser-Blanco im Verdauungsversuch mit menschlichem Duodenalsaft, der durch die Duodenalsonde gewonnen war, Pyrimidinnucleotide und freies Adenin.

Die Verdauung der tierischen Nucleinsäuren verläuft nicht über Purinnucleotide. Dieser Unterschied gegenüber den pflanzlichen Nucleinsäuren ist in dem verschiedenen struktuellen Aufbau des pflanzlichen und tierischen Nucleinmoleküls begründet. London, Schittenhelm, Wiener glauben, bei einem Fistelhund nach Verfütterung von thymonucleinsaurem Natrium im Ileumsaft Guanosin nachgewiesen zu haben. Mit Sicherheit kann man sagen, daß dieses Guanosin nicht aus dem thymusnucleinsauren Natrium stammt, da im tierischen Polynucleotid kein Pentosid enthalten ist. Inwieweit dieser Befund überhaupt stichhaltig ist, erscheint nach der angewandten Methode zweifelhaft.

Die alte Beobachtung, daß die nahezu unlösliche a-Form der Thymusnucleinsäure durch den Pankreassaft (Abderhalden-Schittenhelm, Araki) in eine leicht lösliche b-Form übergeführt wird, dürfte nicht nur in einer physikalischen Zustandsänderung des Polynucleotidkomplexes seine Ursache haben, sondern vielmehr in der durch Thannhauser's Versuche erwiesenen Aufspaltung des Polynucleotidkomplexes in einfache Nucleinsäuren hervorgerufen sein. Inwieweit diese Aufspaltung des großen Nucleinsäuremoleküls in einfache Nucleinsäuren durch Trypsin oder Erepsin oder lediglich durch die Alkalinität des Dünndarmsaftes oder durch ein spezifisches Ferment (Nucleotidacidase, Nucleinase) bewirkt wird, steht noch zur Diskussion.

Die Methodik von Waldschmitt-Leitz könnte diese Fragestellung einer Lösung zuführen. Ein Ferment, das das Nucleotidmolekül in seine Bausteine Purin, Kohlehydrat, Phosphorsäure zerlegt (Nuclease), kommt in größerer Menge in den oberen Darmabschnitten nicht vor; in den unteren Darmabschnitten tritt die fermentative Aufspaltung gegenüber der bakteriellen Zersetzung zurück. Über die wichtige Einwirkung der Darmflora auf das Nucleinsäuremolekül, in Sonderheit auf die Purinkörper, wird später zurückzukommen sein.

Daß die Oxydation der Purinderivate eine Dehydrierung im Sinne der Wieland'schen Theorie ist, zeigen Versuche, wo der Sauerstoff durch Methylenblau ersetzt ist.

Dixon und seine Mitarbeiter haben gezeigt, daß in der Milch eine Xanthinhydrase enthalten ist, durch die Xanthin im Vakuum bei Gegenwart von Methylenblau als Wasserstoffakzeptor zu Harnsäure dehydriert wird.

Die bequemste Methode zur Bestimmung der Milchoxydase ist die Reaktion des Methylenblau im Vakuum. Die Wirksamkeit verschiedener Milchproben schwankt sehr und vermindert sich sehr schnell. Entfernung des Fettes vermindert die Wirkung der Xanthin-Oxydase aber nur durch Verminderung der Oberfläche. Zusatz von gekochtem Fett steigert auch die Wirkung.

Bei Halbsättigung mit Ammonsulfat wird die Oxydase vollständig zusammen mit dem Caseinogen ausgefüllt. Durch Nachbehandlung mit Äther kann dann ein gut wirksames, fettfreies Enzympulver erhalten werden, das in Wasser sich mit schwacher Opaleszenz löst. Das Präparat ist haltbar, es enthält auch die Schardinger'sche Aldehyd-Oxydase, ferner etwas Adenase. Außer Hypoxanthin, Xanthin, Adenin und Aldehyden bewirken keine Substanzen die Reduktion des Methylenblau durch das Enzym. Bei der Labung der Milch verbleibt ein Teil des Enzyms in der Molke. Das Enzym wird nur wenig durch Tierkohle, ziemlich vollständig durch Aluminiumhydroxyd und Filtrierpapier absorbiert. Dabei bleibt es aktiv, es wird langsam durch den Luftsauerstoff zerstört. Ferner wird es durch Alkohol und Aceton, aber nicht durch Äther, Chloroform, Tulol oder Glycerin zerstört. Durch Stehen in neutraler Lösung

werden Xanthin und Hypoxanthin so verändert, daß sie durch das Enzym nicht mehr oxydiert werden (Dixon-Malcolm-Silva Thurlow).

Die Reaktionsgeschwindigkeit ist zwischen p_H 5,5 und 9 konstant. Über 9 und unter 4 wird das Enzym zerstört. Zwischen 4 und 5 ist die Reaktionsgeschwindigkeit sehr gering, ohne daß Enzym zerstört wird. Die Reaktionsgeschwindigkeit ist der Enzymkonzentration direkt proportional, aber unabhängig von der Methylenblaukonzentration, wenn diese nicht sehr gering ist. Wenn die Konzentration der Purinbasen für eine bestimmte kritische Konzentration zunimmt, nimmt die Geschwindigkeit ab, darunter ist sie unabhängig von der Purinbasenkonzentration. Ebenso wie die reagierenden Purine wirken auch andere, wie z. B. Harnsäure. Mit Zunahme der Enzymkonzentration nimmt auch die kritische Purinkonzentration zu. Unter der kritischen Konzentration reduziert Hypoxanthin doppelt so stark das Methylenblau als Xanthin, vom Beginn der Hemmung an gleicht sich das aus, bei vollständiger Hemmung besteht kein Unterschied. Bei maximaler Hemmung durch die Purine ist die Geschwindigkeit abhängig von der Methylenblaukonzentration. Bei der Erklärung der Befunde wird namentlich auf die Konkurrenz der reagierenden Stoffe um die Enzymoberfläche Rücksicht genommen (Dixon-Malcolm-Silva Thurlow).

Milch oder daraus dargestellte Präparate von Xanthin-Oxydase reduzieren Nitrate zu Nitriten in Gegenwart von Hypoxanthin, Xanthin, Adenin oder Aldehyd. Die Nitrate ersetzen bei der Reaktion das Methylenblau als Wasserstoffakzeptor. Der Umfang der Nitratreduktion ist dem Umfang der Methylenblaureduktion unter gleichen Bedingungen proportional. Durch Purine wird die Reduktion der Nitrate ebenso wie die des Methylenblau gehemmt (Dixon-Malcolm-Silva Thurlow).

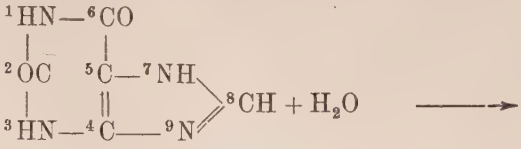
Die Caseinorgandarstellung der Xanthinoxydase + eines ihrer Substrate oxydiert Nitrit nur in Gegenwart von Peroxydase. Das vollständige System besteht aus Xanthinoxydase, Hypoxanthin oder Xanthin oder Aldehyd, aus Milchperoxydase und aus Nitrit. Die Milchoxydase kann durch Leber-Peroxydase ersetzt werden. Wasserstoff (Peroxyd) entsteht reichlich, wenn Hypoxanthin, Xanthin oder Aldehyd durch die Xanthinoxydase in Gegenwart von molekularem Sauerstoff oxydiert wird. Katalase hemmt die Oxydation von Nitrit in Gegenwart von Milch, Hypoxanthin und molekularem Sauerstoff. Nitrit wird oxydiert durch das System Bernsteinsäure-Oxydase, Bernsteinsäure, tierische Peroxydase und molekularem Sauerstoff. Nitrit wird auch oxydiert bei der Autooxydation von —SH-Verbindungen wie Cystein und Glutathion, wenn Milchperoxydase vorhanden ist.

Diese Resultate führen zu dem Schluß, daß Peroxyd bei der aeroben Oxydation von Bernsteinsäure, Cystein und Glutathion gebildet wird. Bei der Anwendung von Hypoxanthin, Xanthin, Aldehyd und Bernsteinsäure wird Peroxyd direkt durch Zufügung

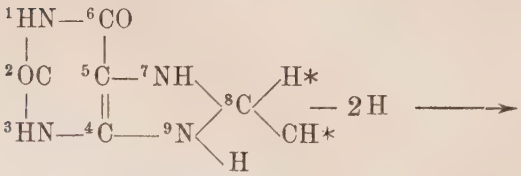
von aktivem Wasserstoff zum Sauerstoffmolekül gebildet. Die Systeme Xanthin-Oxydase + einem ihrer Substrate sowie Bernsteinsäure-Oxydase + Bernsteinsäure, Cystin und Glutathion verhalten sich wie die Oxygenasen von Bach. Eine für den allgemeinen Gebrauch verwendbare tierische Peroxydase kann erhalten werden, wenn man das Filtrat einer mit Ammonsulfat halbgesättigten Milch mit Ammonsulfat sättigt (Dixon-Malcolm-Silva Thurlow).

Bei der Oxydation der Purinbasen durch molekularen Sauerstoff in Gegenwart einer Xanthinoxydase als Katalysator wird die Oxydase während der Dauer der Reaktion in zunehmendem Maße zerstört. Dieser Umstand macht die Messung der Sauerstoffaufnahme ungeeignet als allgemeine Methode für die Untersuchung der Dynamik des Enzyms. Die Zerstörung wird durch das Wasserstoffsuperoxyd bewirkt, das sich während der Reaktion bildet. Die Zerstörung der Oxydase wird verhütet durch Zufügung von Katalase, der in tierischen Geweben eine Schutzwirkung zukommt (Dixon-Malcolm).

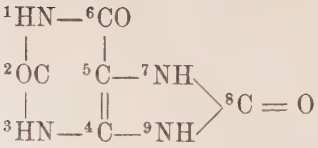
Nach dieser Untersuchung verläuft die Reaktion der Dehydrierung von Xanthin zu Harnsäure so, daß zuerst an die Doppelbindung zwischen 8 und 9 H_2O angelagert wird, und daß dann die beiden Wasserstoffatome in 8 aus den Molekülen austreten.



Xanthin.



Hydriertes Xanthin.



Harnsäure.

Abbau der endogen entstandenen Nucleinsäuren.

Die grundlegenden Versuche von Hobraczewski zeigten, daß bei Digestion von frischen Organextrakten unter Luftzutritt Harn-

säure entsteht; auf 1 g Milzpulpa konnte er ca. 2,5 mg Harnsäure erhalten. Damit war der Beweis erbracht, daß auch endogen zerfallende Nucleinsubstanzen zur Harnsäure abgebaut werden.

Hobraczewski ging sogar so weit, daß er die Harnsäurevermehrung im Urin, die auf Zufuhr von nucleinhaltiger Nahrung stattfand, auf einen Zerfall von Leukozyten, die durch eine konsekutive Verdauungsleukozytose erzeugt sein sollte, zurückführte und als endogen entstandene Harnsäurevermehrung ansah. Obgleich diese Deutung sich als unrichtig erwies, blieb das klassische Experiment von Hobraczewski für den Purinstoffwechsel grundlegend. Spitzer, Wiener erweiterten diese Befunde durch den Nachweis, daß bei der Digestion der verschiedensten Organextrakte unter Luftdurchleitung Harnsäure entsteht. Fr. Müller und seine Schüler Böhm, Simon konnten beweisen, daß bei der Autolyse pneumonischer Lungen besonders große Mengen von Purinen entstehen.

Man unterscheidet seit Burian, Schur eine exogene und endogene Harnsäurequote im Urin. Damit ist gesagt, daß die gesamten Harnsäure bildenden Prozesse, d. h. der Abbau der Nucleinsäuren im Organismus, in eine Abwandlung der mit der Nahrung zugeführten Nucleine und der im Körper selbst aus Zerfallsprodukten entstehenden Nucleinsäuren sich gliedert. Die Abwandlung der endogen auftretenden Nucleinsäuren dürfte wahrscheinlich nach den gleichen Gesetzen erfolgen wie wir sie beim Abbau der mit der Nahrung zugeführten Nucleine kennengelernt haben. Wir haben gesehen, daß im Darm zum größten Teil die von ihrer Eiweißkompenente losgelösten Nucleinsäuren mit größter Wahrscheinlichkeit als komplexe, wasserlösliche Nucleotide resorbiert werden und im intermediären Stoffwechsel bei intakter Purinzuckerbindung oder auch als freie Aminopurine desamidiert werden können. Die Annahme ist berechtigt, daß endogen entstandene Nucleinsäuren auf die gleiche Weise abgebaut werden und zum Stoffwechselendprodukt, zur Harnsäure, oxydiert werden. Für das intermediäre Auftreten von endogen entstandenen Nucleotiden spricht auch das von Thannhauser-Czoniczer gefundene vermehrte Auftreten von gebundenen Purinen im Blutserum bei Leukämie und im Empyemserum. Durch diesen Nachweis sind die Ergebnisse der Verdauungsversuche von pflanzlichen und tierischen Polynucleotiden, die eine Aufspaltung zu einfachen Nucleotiden zeigten und deren Resorption wahrscheinlich machten, wesentlich gefestigt worden.

Wenn wir nun die Frage diskutieren wollen, welchen Vorgängen die endogen entstehende Nucleinsäure und ihr Abwandlungsprodukt, die endogene Harnsäure, ihre Entstehung verdankt, muß zunächst festgelegt werden, auf welche Weise die Höhe der endogenen Harnsäure zu bestimmen ist. Es dürften hier die gleichen Gesichtspunkte maßgebend sein, wie bei der Feststellung des Eiweißminimums. Es muß eine kalorisch vollwertige Nahrung gereicht werden, in der

die Vorstufen der Purine nicht enthalten sind, das ist eine Kohlehydratfettnahrung. Demnach sind die Hungerwerte keine endogenen Purinwerte. Auf Hungerwerte wurden 0,2 g (Schreiber-Waldvogel) bei dem Hungerkünstler Succi nach 20 Fasttagen 0,24 (Lo Monaco) beim gleichen Hungerkünstler nach 30 Tagen 0,3—0,35 g (Brugsch) gefunden. Burian-Schur bestimmten den endogenen Purinstickstoff (Harnsäure + Purinbasen) bei purinarmer, nahezu purinfreier Kost. Er beträgt pro Tag im Mittel 0,1—0,2 g. Die Untersucher aber sahen sehr große individuelle Schwankungen in der Breite von 0,08—0,25 g Purin-N. Der individuelle Wert soll für das Einzelindividuum konstant sein. Diese endogenen Purinstickstoffwerte ergeben, auf Harnsäure umgerechnet (die Harnsäure enthält 33,3 %), 0,08 · 33,3 = 0,266 g Harnsäure und 0,25 · 33,3 = 0,832 g Harnsäure. Letzterer Wert als endogener Harnsäurewert ist sicherlich zu hoch gegriffen. E. Krauß hat gelegentlich von Eiweißminimumversuchen an der Klinik Thannhauser's den endogenen Harnsäurewert bei eiweißfreier Kohlehydrat-Fettkost 112—196 mg bei 70 kg, das ist 1,96—2,8 mg pro Kilogramm oder 50—80 mg pro Quadratmeter Körperoberfläche, gefunden.

Bei Kindern fanden Steudel-Ellinghaus bei Milchkost (Ammenmilch 0,012 % Harnsäure, Kuhmilch nur Spuren von Harnsäure; wieviel gebundene Purine in der Milch vorhanden sind, wurde von den Autoren allerdings nicht bestimmt) 26—28,5 mg U-N, d. h. 865,8—949,05 mg Harnsäure.

Dem endogenen Harnsäurewert im Urin entspricht ein bestimmter Harnsäuregehalt des Blutes. Nach drei Tagen purinfreier Kost findet man für 100 ccm Serum 2,4—4,5 mg Harnsäure (kolorimetrische Bestimmungen nach Folin, [Benedict-Hitchcock]). Für gewisse Krankheitszustände ist der Vergleich der Blutharnsäure- und Urinharnsäurewerte von Wichtigkeit. Hierbei sind aber nicht die Tageswerte der Harnsäure zu vergleichen, sondern die Serum- und Urinkonzentration; normalerweise entspricht eine niedere Urinkonzentration, 2—3 mg % im Blut, 20—50 mg % im Urin. Ist die Konzentration im Blut erhöht, und dabei die Konzentration im Urin nieder, so weist dies immer auf eine Störung der Harnsäureausscheidung hin. Der Puringehalt des normalen Urins ist sehr nieder. Das Verhältnis des endogenen Harnsäurestickstoffs zum Purinbasenstickstoff schwankt zwischen weiten Grenzen.

Es bestehen zwei Möglichkeiten: daß das einfache Nucleotidmolekül zunächst ungespalten bleibt und die in ihm präformierten Purine und Pyrimidine bei intakter Purinzuckerbindung desamidiert werden, so daß schließlich ein Harnsäurenucleotid (Dohrn) entstünde, das in Harnsäure, Zucker und Phosphorsäure zerfiele; und daß das resorbierte einfache Nucleotidmolekül durch ein nucleolytisches Ferment in seine Bausteine Amino-purine und -pyrimidine, Zucker, Phosphorsäure zerfallen würde.

Die erste Annahme ist zunächst sehr bestechend. Bommes, Severin, Thannhauser sahen nach subcutanen Einspritzungen

der Nucleoside Guanosin und Adenosin beim Menschen die diesen Substanzen entsprechende Menge von Harnsäure zu 70—100 % im Harn wieder erscheinen.

Aus diesen Untersuchungen ist zu entnehmen, daß die Harnsäure das Stoffwechselendprodukt des menschlichen Nucleinstoffwechsels ist und daß im intermediären Stoffwechsel der Abbau des Adenins im Gegensatz zu den Organversuchen von Jones gelingt, sofern das Adenin noch in der in den Nucleinsäuren präformierten Nucleosidbindung zum Abbau vorliegt. Es lag daher die Annahme nahe, daß die Desamidierung und die Oxydation der Purine im intermediären Stoffwechsel sich bei intakter Nucleosidbildung vollziehen und vielleicht erst beim Auftreten eines bisher hypothetischen Harnsäurenucleosides die Purinzuckerbildung infolge der Unbeständigkeit der Oxypuringlykoside auseinanderfalle.

Von dieser Vorstellung ausgehend haben sie versucht, die Nucleoside Guanosin, Adenosin und Xanthosin mit Leberextrakt zu desamidieren und zu oxydieren, um auf diesem Wege zu den erwarteten Oxypuringlykosiden zu gelangen. Ihre Erwartungen haben sich nicht erfüllt: schon nach kurzdauernder Einwirkung des Leberbreies (15 Minuten unter Luftzutritt) sind als Reaktionsprodukte freies Xanthin und Harnsäure nachzuweisen, freie Aminopurine (Adenin oder Guanin) wurden hingegen nicht gefunden. Sie haben die Einwirkung des Leberextraktes so zeitig unterbrochen, daß neben Xanthin und Harnsäure noch geringe Mengen des Ausgangsproduktes (Adenosin und Guanosin) in Organflüssigkeit nachzuweisen waren.

Ein als Zwischenprodukt aufgetretenes Oxypuringlykosid hätte bei dieser Versuchsanordnung und Oxydation bestehen können. Im gleichen Sinne sprechen auch die Versuche von Levene-Medigrekann, die bei Einwirkung von Leberpreßsaft auf Nucleoside die optische Aktivität der Reaktionsflüssigkeit in kürzester Zeit zurückgehen sahen. Da aber in den Versuchen von Severin, Thannhauser-Bommes beim Digerieren von Adenosin und Guanosin bei noch so kurzer Versuchsdauer weder freies Adenin noch Guanin entsteht, dürfte die Schlußfolgerung berechtigt sein, daß gleichzeitig mit der Desamidierung (vielleicht infolge der Desamidierung) die Nucleosidbindung auseinanderfällt.

Soweit es erlaubt ist aus Organversuchen auf intermediären Stoffwechsel zu schließen, dürfen ihre Versuchsergebnisse auch im intermediären Stoffwechsel die Desamidierung und Oxydation der Nucleoside nicht bis zum Xanthosin bei intakter Nucleosidbindung vor sich geht. Es dürfte wahrscheinlich sein, daß auch im Stoffwechsel gleichzeitig mit der Desamidierung (vielleicht infolge der Desamidierung?) die Purinzuckerbindung auseinanderfällt. Ein allenfallsiger Einwand, daß die Purinzuckerbindung schon vor der Desamidierung durch ein nucleolytisches Ferment gelöst worden sein könnte, scheint ihnen deshalb unberechtigt, da sie in ihren Versuchen niemals freie Aminopurine sondern nur die zugesetzten Aminopuringlykoside und freie Oxypurine fanden. Mit diesem Er-

gebnis deckt sich auch die auf Grund der Stoffwechselversuche mit Guanosin und Adenosin von dem einen von ihnen geäußerten Ansicht, daß beim intermediären Abbau der Nucleinsäuren die freien Aminopurine Adenin und Guanin nicht als physiologische Zwischenprodukte auftreten.

Als Kriterium der Aufspaltung benutzten diese Autoren die Änderung der optischen Aktivität der gelösten Substanzen. Von chemischen Kriterien kamen nur der qualitative Nachweis von freier Phosphorsäure und Zucker in Anwendung. Obgleich man ohne eigentlichen Nachweis der beim Fermentversuch entstehenden Substanzen auf die Art des fermentativen Vorgangs nicht schließen kann, glaubt Levene drei verschiedene Fermente für den Abbau der Polynucleotidkomplexe durch diese Versuche festgestellt zu haben.

1. Nucleinase. Dieses Ferment soll die Polynucleotide in einfache Nucleotide aufspalten. Das Ferment kommt in allen Organen und im Pankreassaft vor; im Magensaft ist es nicht vorhanden (siehe auch die Versuche mit menschlichem Darmsaft von Thannhauser-Dorfmüller).

2. Nucleotidase. Dieses Ferment spaltet den Nucleotiden Phosphorsäure ab, d. h. es hydrolisiert die esterartige Bindung des Zuckerphosphorsäurekomplexes und läßt Nucleoside entstehen. Es soll im Preßsaft aller Organe und im Darmsaft, merkwürdigerweise aber nicht im Pankreassaft, vorkommen. Inwieweit dieses hydrolytische Ferment spezifisch nur auf Mononucleotide eingestellt ist, oder auch aus Polynucleotiden Phosphorsäure abspaltet, läßt sich nicht sagen.

3. Nucleosidase. Dieses Ferment spaltet die Nucleoside in Zucker und Purine. Es ist in den Preßsäften der meisten Organe gegenwärtig, findet sich aber nicht in den physiologischen Sekreten des Magen-Darmkanals. Besonders bemerkenswert ist das Fehlen dieses Ferments im Darmsaft.

Nucleinase, Nucleotidase und Nucleosidase sind hydrolytische Fermente, die jeweils auf bestimmten Bindungen des Moleküls eingestellt sein dürften. Über den zeitlichen Ablauf der Einwirkung dieser verschiedenen Fermente kann man mit Sicherheit sagen, nämlich, daß im Magen-Darmkanal das Polynucleotidmolekül nur durch eine Nucleinase (Nucleotidacidase) in einfache Nucleotide zerlegt wird und freie Purine in wesentlicher Menge bei der pflanzlichen Nucleinsäure nicht auftreten. Inwieweit diese Spaltung bei den Nucleotiden auch für die tierische Nucleinsäure zutrifft, erscheint fraglich (Thannhauser-Blanco). Über den weiteren Ablauf im intermediären Stoffwechsel sind sie nur auf Experimente, die mit kristallisierten Derivaten der pflanzlichen Nucleinsäure, dem Adenosin und den Guanosin, angestellt werden, angewiesen.

Nach der vorausgehenden Darstellung vollzieht sich der Abbau des Polynucleotidmoleküls mit großer Wahrscheinlichkeit in der Reihenfolge, daß im Darmkanal nur einfache wasserlösliche Nu-

cleotide durch Aufspaltung der Phosphorsäureanhydridbindungen entstehen (Nucleinase, Nucleotidacidase). Die resorbierten Nucleotide werden bei intakter Purinzuckerbindung desamidiert. Die Desamidierung kann im Nucleotidkomplex sich vollziehen oder an den Nucleosiden, nachdem die Phosphorsäure abgespalten ist (Nucleotidase). Gleichzeitig oder wahrscheinlich infolge der Desamidierung fällt der Nucleosidkomplex auseinander (Nucleosidase), es entstehen Oxypurine, die zur Harnsäure oxydiert werden.

Schittenhelm faßt das Ergebnis seiner Untersuchungen dahin zusammen, daß die Nucleinsäure im intermediären Stoffwechsel (Mensch, Rind, Schwein, Hund) durch ein nucleotisches Ferment Nuclease Araki, Iwanoff, Sachs) in ihre Bausteine zerlegt und die so entstehenden Aminopurine, Adenin und Guanin, durch ein desamidierendes Ferment (Purindesamidase) in Hypoxanthin und Xanthin verwandelt werden. Hypoxanthin und Xanthin werden durch die Wirkung eines oxydierenden Ferments (Xanthinoxydase) zu Harnsäure oxydiert.

Jones konnte im Gegensatz zu Schittenhelm in menschlichen Organen nur ein guanindesamidierendes Ferment feststellen.

Adenin bleibt nach den Angaben von Jones durch menschliche Organextrakte unverändert. Jones nimmt daher zwei verschiedene Purindesamidasen (Guanase und Adenase) an. Ob die von den Autoren festgestellten purindesamidierenden und oxydierenden Fermente spezifische Purindesamidasen und Purinoxydasen sind, ist bisher nicht erwiesen.

Da die Purindesamidierung eine einfache, hydrolytische Desamidierung ist, ist es sehr wohl möglich, daß sie durch unspezifische hydrolytische Fermente, die in fast allen Organen zu finden sein dürften, bewirkt werden kann. Das gleiche gilt auch für die Spezifität des xanthioxydierenden Ferments (Xanthinoxydose).

Nach den bisherigen Ergebnissen ist es wahrscheinlich, daß beim Abbau der Aminopurine im intermediären Stoffwechsel der zeitliche Ablauf der Reaktionen in der Reihenfolge zuerst Desamidierung, dann Oxydation erfolgt, da Dioxypurine weder im Organ- noch im Stoffwechselversuch entstehen.

Nicolaier glaubt zwar Dioxyaminopurin nach Injektion von Adenin bei Ratten in Kristallform in der Niere festgestellt zu haben, aber schon das anormale Auskristallisieren dieser Substanz im Nierengewebe spricht gegen das physiologische Auftreten eines Dioxyaminopurins im intermediären Stoffwechsel.

Über die Verteilung der Guanase, Adenase und Xanthinoxydase in den verschiedenen Organen des Menschen und der verschiedenen Tiere findet sich eine übersichtliche Zusammenstellung von Schittenhelm-Harpuder.

Bis zur Bildung der Harnsäure scheint der Abbau der Purine im menschlichen und tierischen Organismus gleichartig zu verlaufen. Während im menschlichen Organismus ein Abbau der Harnsäure nicht mehr möglich ist, vermögen fast alle anderen Tiere die Harn-

säure durch ein uricolytisches Ferment (Urikase, Urikooxydase) weiter zu oxydieren.

Wichowski konnte zeigen, daß das Harnsäure zerstörende Ferment die Harnsäure in Allantoin verwandelt. Obgleich die Frage der Urikolyse beim Menschen heute in dem Sinn als entschieden angesehen werden kann, daß in menschlichen Organen ein urikolytisches Ferment nicht vorkommt, und die Harnsäure das Endprodukt des Purinstoffwechsels beim Menschen ist, sei doch die große Reihe von Untersuchungen angeführt, die diese Frage zu klären versuchten.

Jones, Schittenhelm, Stockvis, Wichowski, Wiener haben durch Fermentversuche in Organextrakten bei allen Tieren, aber nicht beim Menschen, ein harnsäureabbauendes Ferment nachgewiesen. Durch Fütterungsversuche konnten das gleiche Minkowski, Salkowski und vor allem Wichowski beweisen. Besonders konnte letzterer durch subkutane Injektion von Harnsäure die Allantoinausscheidung um die der injizierten Harnsäure entsprechende Menge steigern. Die Verhältnisse beim Menschen liegen ganz anders; weder durch Versuche mit Organextrakten (Jones, Schittenhelm, Wichowski) noch durch Fütterungsversuche von Purinen und Harnsäure (Krüger-Schmid, Brugsch-Schittenhelm) konnte ein urikolytisches Ferment festgestellt werden. Besonders eindrucksvoll sind die Versuche, in den harnsaures Natrium parenteral durch Injektion zugeführt wurde (Dohrn, Soetbeer, Thannhauser, Umber, Wichowski). Die Untersucher fanden 70—100 % der injizierten Harnsäure im Urin wieder. Der Einwand gegen die Injektionsversuche, daß einmal gebildete Harnsäure vom Menschen nicht mehr zerstört werde, daß aber die Harnsäure in statu nascendi gleich weiter oxydiert werden könne, konnten Thannhauser-Bommes durch Injektionsversuche mit den Aminopuringlykosiden, Adenosin, Guanosin widerlegen. Dieser Untersucher, ferner Gudzent, Severin, Thannhauser-Schaber fanden 70—100 % der injizierten Nucleoside als Harnsäure im Urin wieder. Die Hauptstütze der Ansicht, daß beim Menschen ein urikolytisches Ferment existiere, waren Stoffwechselversuche und Briesmahlzeit, Nucleinsäuren und Purine, bei denen nur ein Bruchteil (bei der Briesmahlzeit ca. ein Drittel der vorgebildeten Purine) als Harnsäure wieder gefunden werden konnte, hingegen aber eine beträchtliche Mehrausscheidung an Harnstoff festgestellt wurde. Dieser Befund bei Verfütterung von Nucleinen wurde nicht nur von Brugsch-Schittenhelm, sondern von allen Untersuchern, die vor und nach Brugsch-Schittenhelm derartige Versuche machten, erhoben. Dieser bemerkenswerte Unterschied der Harnsäuremehrausscheidung nach enteraler und parenteraler Zufuhr von Harnsäurebildnern und Harnsäure selbst konnte von Thannhauser-Dorfmüller dahin aufgeklärt werden, daß im intermediären Stoffwechsel eine Aufspaltung des Purinrings beim Menschen nicht erfolgt, daß aber die Bakterienflora im menschlichen Darm in weit-

gehendem Maße befähigt ist, Purine aufzuspalten. Sivén hatte bereits früher darauf hingewiesen, daß die Bakterien der Koligruppe den Purinring zerstören können. Thannhauser-Dorfmüller zeigten durch Einwirkung der Flora der Darmbakterien auf Nucleoside, daß diese Zerstörung des Purinmoleküls unter Ammoniakbildung verläuft. Somit sind alle Bilanzversuche, welche durch Verfütterung von Harnsäurebildnern auf den intermediären Purinstoffwechsel und auf eine intermediäre Urikolyse schließen wollen, nicht beweisend. Derartige Versuche gehen von der falschen Voraussetzung aus, daß alle Purine, soweit sie nicht resorbiert werden, im Kot unverändert zur Ausscheidung gelangen. In der Tat werden aber ziemlich erhebliche Mengen von Purinen durch die Darmbakterien aufgespalten. Es ist nicht verwunderlich, daß die hiebei entstehenden Ammoniumsalze als Harnstoff im Urin bei Stoffwechselversuchen in Erscheinung treten, so daß die bakterielle Urikolyse im Darm eine intermediäre Urikolyse vortäuscht. Resümierend wollen sie festhalten, daß im intermediären Stoffwechsel des Menschen eine Urikolyse nicht statt hat.

Eine Tatsache, die überraschend ist, da in der aufsteigenden Tierreihe der Wirbeltiere der Mensch eine Ausnahme macht. Stoffwechselversuche mit Harnsäurebildnern sind deshalb nur mit äußerster Vorsicht vom Tier auf den Menschen auszuwerten, lediglich die Menschenaffen wären zu vergleichenden Versuchen heranzuziehen, da auch ihnen die Fähigkeit zur intermediären Urikolyse fehlt.

An dieser Auffassung der Sonderstellung des Menschen im intermediären Purinabbau kann auch die Tatsache nichts ändern, daß im Harn des Menschen minimale Mengen Allantoin (einige Dezigramme pro Tag) von Wichowski gefunden wurden. Er selbst und auch Schittenhelm halten es für wahrscheinlich, daß das Allantoin des Menschenharns aus der Nahrung stammt, zumal es bei fleischfreier Nahrung nahezu vollständig verschwindet. Es erscheint aber durchaus möglich, daß auch beim Menschen noch ganz geringe Fähigkeiten der phylogenetisch älteren Urikolyse bestehen, diese Fähigkeit aber dürfte so gering sein, daß sie praktisch nicht in Erscheinung tritt. Die Harnsäure ist als Endprodukt des intermediären Purinstoffwechsels des Menschen anzusehen.

Kurz: Der Purinstoffwechsel verläuft, wie wir in den vorstehenden Ausführungen gesehen haben, nach der Resorption der im Darm aus den Nucleinen freigemachten Nucleinsäuren im intermediären Stoffwechsel über die Desamidierung der im Nucleotidmolekül gebundenen Aminopurine (Purindesamidasen) zu den Oxypurinen und als Endprodukt zu der Harnsäure (Purinoxydasen). Beim Menschen und beim anthropoiden Affen gelangt die Harnsäure als Endprodukt zur Ausscheidung, bei den übrigen Säugern wird die Harnsäure zu Allantoin oxydiert.

Dieser Stoffwechsel vollzieht sich in gerader Linie von den Aufnahmeorganen über den Darm, Gewebe, drüsige Organe zum

Exkretionsorgan, zur Niere. Die Niere ist nach unseren heutigen Kenntnissen das hauptsächlichste Ausscheidungsorgan für Harnsäure. Kleinere Mengen von Harnsäure werden auch durch den Schweiß und wohl auch über die Galle durch den Darm und vielleicht auch zu einem Teil direkt aus den Geweben rückläufig in den Darm sezerniert.

Brugsch-Rother haben in einer Reihe von Arbeiten auf die beiden letzteren Ausscheidungsmöglichkeiten, Galle und Darm, hingewiesen. Sie ziehen aus ihren Untersuchungen den weittragenden Schluß, daß die „enterope" Harnsäureausscheidung, wie sie diesen Weg der Ausscheidung durch Galle und Darm benennen, für die Physiologie von einer bisher nicht gewürdigten grundlegenden Bedeutung sei.

Harpuder aus der Schittenhelm'schen Klinik hat durch methodisch einwandfreie Untersuchungen den Gehalt der Galle an Harnsäure als nicht abweichend und parallelgehend mit dem Harnsäuregehalt der übrigen Körpersäfte gefunden und damit die weitgehenden Folgerungen von Brugsch-Rother in die gebührenden Grenzen verwiesen. Was nun die Harnsäureausscheidung in den Darm betrifft, so muß man die von Brugsch-Rother für die Darmanalyse nach Harnsäureinjektion gefundenen Werte nur in prozentualer Relation mit dem Gewichte der übrigen Gewebe stellen, um zu erkennen, daß die $\overline{U}$-Konzentration im Darm nicht wesentlich von der $\overline{U}$-Konzentration anderer Gewebe verschieden ist.

In diesem Sinne sprechen auch die Untersuchungen von Thannhauser-Lurz-v. Gara am nierenlosen Hunde. Wir werden also nicht fehlgehen, wenn wir als hauptsächlichstes Ausscheidungsorgan für die Harnsäure die Niere ansehen und den Ablauf des Purinstoffwechsels in geradliniger Weise vom Aufnahmeorgan ins Exkretionsorgan annehmen. Es sei auch hier nochmals auf die Bedeutung der bakteriellen Purinzersetzung in den tieferen Darmabschnitten verwiesen, aber wiederum betont, daß zur Resorption gelangende Nucleinsäuren und Purine im intermediären Stoffwechsel des Menschen nur bis zur Harnsäure abgebaut werden (Thannhauser).

Das Nervensystem kann auf den Ablauf des intermediären Purinstoffwechsels auf zwei Arten Einfluß gewinnen: Erstens kann der Ablauf der fermentativen Prozesse (Nucleotidspaltung, Desamidierung und Oxydation) von nervösen Regulationen beeinflußt sein; zweitens ist, wie wir heute sicher wissen, das Exkretionsorgan die Niere, von nervösen Impulsen beeinflußbar.

Die Autoren, welche die nervöse Regulation des Purinstoffwechsels in den Bereich ihrer Untersuchungen zogen, haben keine wesentliche Unterscheidung dieser beiden Momente aus ihren Experimenten herauslesen können.

Abl, Marês haben Verminderung der Harnsäureausscheidung nach Pilocarpininjektion beobachtet. Die Untersucher bezogen diese Erscheinung auf eine verminderte Durchblutung des Darms und auf eine konsekutive Verringerung der purinhaltigen Darmsekrete. Bei

gleichzeitiger Verabreichung von Atophan würde die Atophanwirkung, d. h. die Harnsäuremehrausscheidung, ausbleiben.

Falta, Fleischmann-Salecker glaubten nach Adrenalin eine Vermehrung der Allantoinausfuhr beim Tier zu beobachten.

Eine Vermehrung der Allantoinausfuhr ohne Diurese beschrieben Dresel-Ullmann nach Coffein- und Diuretingabe.

Puhl hat organische und anorganische Gifte untersucht, aber nur nach Adrenalin einen Ausschlag der Allantoin und Harnsäureelimination nach oben beobachtet.

Beim Menschen haben Kraus-Oestreicher nach Adrenalininjektion festgestellt, daß zur Zeit der Blutdruckerhöhungen, namentlich bei gleichzeitiger intravenöser Gabe von Natriumurat, die Harnsäureausscheidung absinkt, nach dem Abklingen der Blutdruckerhöhung aber ansteigt. Pilocarpin und Adrenalin summieren sich hinsichtlich der Harnsäureausschwemmung, Atropin verstärkt und verlängert die depressive Phase.

Besonders gründlich hat Harpuder die Einwirkung sympathicomimetischer Substanzen auf den Purinstoffwechsel studiert. Hinsichtlich des Adrenalins und Pilocarpins hat er die erwähnten, bereits vorliegenden Untersuchungsergebnisse bestätigt. Als besonders wichtig konnte dieser Autor feststellen, daß durch Ergotamin (2—3 ccm einer 0,5 %-Lösung) die Harnsäureausscheidung unmittelbar nach der Einspritzung wenige Stunden stark heruntergedrückt wird, obgleich die Konzentration der Harnsäure im Blut unverändert bleibt.

Dresel-Ullmann beziehen die Mehrausscheidung nach Coffein und Diuretin und rückwirkend auch den Effekt anderer Pharmaca auf einen Reiz zentraler Sympathicuszentren, die ähnlich wie bei der Piqûre eine Harnsäureausschwemmung auf dem Weg über den peripheren Sympathicus zur Leber auslösen soll.

Aus der gleichen Schule hatte bereits Michaelis nachgewiesen, daß beim Kaninchen durch die Piqûre eine vermehrte Allantoinausscheidung ausgelöst wird.

Rosenberg glaubte dann die Erklärung dieses Befundes in einer Mobilisation von Purindepots in der Leber auf dem Wege des Sympathicus experimentell durch Auswaschung künstlich durchbluteter Lebern geben zu können. Die Erhöhung der Purinwerte in der Durchströmungsflüssigkeit sind so gering, daß sie nicht als ein Beweis für ein Purindepot in der Leber angesehen werden können. Es existiert bis heute nicht der geringste Nachweis, daß ein Purindepot in der Leber vorhanden ist. Es fallen deshalb alle Erklärungen, die die Harnsäureausscheidung nach Pharmaca auf eine Mobilisation eines Purindepots in der Leber beziehen wollen, in sich zusammen.

Eine Beeinflussung der Harnsäureausscheidung durch inkretorische Organe dürfte im Bereich der Möglichkeiten liegen, da die Inkrete auf das vegetative Nervensystem eingestellt sind. Einschlägige Beobachtungen liegen bisher nicht vor. Nur bei der

Akromegalie fanden Falta-Thannhauser-Curtius, Schittenhelm-Harpuder eine Vermehrung der Gesamtharnsäureausscheidung, die aber nach Thannhauser-Curtius nicht durch eine isolierte Beeinflussung der Harnsäureausscheidung, sondern durch eine Erhöhung des gesamten Stoffumsatzes anzusehen ist.

Zusammenfassend läßt sich über den Einfluß des Nervensystems auf den Ablauf des Purinstoffwechsels sagen, daß nervöse Fermente auf die fermentativen Prozesse des Purinstoffwechsels (Nucleotidspaltung, Desamidierung und Oxydation) regulierend einwirken können. Einen Nachweis dieses Geschehens konnte man bisher in eindeutiger Weise nicht führen. Hingegen erscheint die nervöse Beeinflußbarkeit der Ausscheidung der Endprodukte des Purinstoffwechsels (Harnsäure beim Menschen, Allantoin beim Tier) durch endogene und exogene Substanzen außer allen Zweifels.

Eine krankhafte Abartung des Purinstoffwechsels könnte in einer Störung des fermentativen Abbaus der Nucleinsäuren zur Harnsäure begründet sein.

Der fermentative Abbau der Nucleinsäuren ist, wie wir gesehen haben, nicht an die Tätigkeit eines Organs gebunden. In fast allen Organen finden sich purindesamidierende und oxydierende Fermente, die ihre Wirkung sowohl an den im Nucleinmolekül noch feststehenden Purinen, wie auch an den freien Purinen, zu entfalten vermögen. Aus diesem vielfältigen Vorkommen dieser Fermente in den verschiedensten Organen ist es zu erklären, daß auch bei erhöhter Inanspruchnahme, die durch vermehrte exogene Zufuhr (Fleischkost, Briesmahlzeit), wie auch bei vermehrter endogener Bildung (Pneumonie, Leukämie), eine Störung des Abbaus, der zwangsläufig zur Harnsäure führt, nicht festzustellen ist. Es wird in diesen Fällen mehr Harnsäure gebildet, die Funktionsbreite der fermentativen Fähigkeiten des Organismus reicht in allen Fällen vollständig aus, um das physiologische Endprodukt, die Harnsäure, in vermehrtem Maße entstehen zu lassen.

Wir kennen aber eine Erkrankung, bei der harnsaures Natron im Körper zurückbleibt und sich in bestimmten Geweben, in Knorpel, in den Sehnenscheiden und Knochen in kristallisierter Form ablagert. Seit Wollaston im Jahre 1797 diese Ablagerung als Kristalle von harnsaurem Natron erkannt hat, ist die Forschung eifrigst bemüht, die Ursache dieser Harnsäureretention im Körper zu ergründen. Obgleich das klinische Krankheitsbild, welches durch diese Harnsäureablagerungen verursacht wird, unter dem Namen „Gicht", Arthritis urica sowohl klinisch wie auch pathologisch-anatomisch heute als fest umgrenzter Symptomenkomplex dasteht, ist über die Pathogenese dieser Erkrankung der Streit der Meinungen noch nicht zur Ruhe gekommen. Während die einen die Gicht als eine Störung des fermentativen Purinstoffwechsels ansehen, glauben andere hinwiederum für das Krankheitsbild der Gicht eine abnorme Beschaffenheit verschiedener Gewebe, die die Harnsäure besonders stark festhalten sollen, ansprechen zu müssen.

Eine dritte Gruppe von Autoren sieht in der Gicht nicht eine Stoffwechselkrankheit sensu strictori, sondern glaubt als ätiologisches Moment dieser Krankheit, da die Harnsäure ja in gleicher Weise wie beim Gesunden gebildet wird, eine Störung der Harnsäureausscheidung feststellen zu können.

Über das Schicksal der Pyrimidine im intermediären Stoffwechsel wissen wir sehr wenig. Hahn-Lintzel zeigen, daß Cytosin durch ein in der Hefe vorhandenes Ferment hydrolytisch zu Urazil desamidiert wird. „Damit war überhaupt zum ersten Male die Existenz eines Ferments nachgewiesen, das auf natürliche Pyrimidine einwirkt" (Hahn-Haarmann). Nach ihnen desamidiert Bierhefe Cytosin, kann aber Pyrimidin nicht aufspalten.

Über das Verhalten von Pyrimidinderivaten in den Organismen resp. die Einwirkung von Bacterium coli auf Urazil und Cytosin haben Hahn-Schäfer berichtet. Sie fanden, „daß auch durch diese Mikroorganismen Cytosin unter hydrolytischer Ammoniakabspaltung in Urazil übergeführt wird, daß aber Urazil nicht angegriffen wird. Es zeigt sich also dasselbe Verhalten wie früher bei der Hefe beobachtet wurde". Ferner stellten sie fest, daß mit Bakterien geimpfte Bouillon, längere Zeit im Brutschrank gestanden, nie einen Rückstand gab. Somit konnte also das Urazil nur den zugesetzten Pyrimidinderivaten entstammen. „Ein Abbau des zugesetzten Urazils durch Bacterium coli findet somit nicht statt" (Hahn-Schäfer).

Hahn-Haarmann studierten auch die Einwirkung von Hefeextrakt auf andere Aminopurine. Es zeigte sich ihnen, daß die Produkte der Cytosinreihe desamidiert, die der Isocytosinreihe dagegen nicht angegriffen werden. Zusammengefaßt fanden sie, daß Cytosin mit Hefeextrakt in Urazil übergeführt wird. Dagegen werden Isocytosin und 4-Methylenisocytosin nicht angegriffen. „Hiermit steht die Tatsache in Einklang, daß Derivate der Isocytosinreihe bisher in den natürlichen Nucleinsäuren nicht entdeckt worden sind."

Die fermentative Überführung von 5-Methylcytosin zu Thymin halten sie deshalb für bedeutungsvoll, weil dieser Stoff in neuester Zeit von Johnson-Coghill als Bestandteil der Nucleinsäure des Tuberkelbazillus festgestellt wurde. Es ist daher wahrscheinlich, daß 5-Methylencytosin die Muttersubstanz des Thymins in den Organismen ist.

Nach Thannhauser dürfte aber der Mensch die Fähigkeit Pyrmidine im intermediären Stoffwechsel aufzuspalten, in weitgehendem Maße besitzen, da niemals Pyrimidine im Harn gefunden werden. Auch bei Verfütterung von Pyrimidinen sind nennenswerte Mengen im Urin nicht aufgetreten.

Einen kurzen Überblick über den Abbau der Purine und Pyrimidine ergibt die Tabelle.

Die übrigen Bestandteile der Nucleinsäure, insonderheit der Zucker, werden vollständig abgebaut.

Nucleinsäure

Purine		Pyrimidine	
Guanin	Adenin	Cytosin	5-Methylcytosin
(durch hydrolytische Desamidierung)		(durch hydrolytische Desamidierung)	
Xanthin	Hypoxanthin	Urazil	Thymin
(Oxydation)		(Oxydation bis jetzt unbekannt)	
Harnsäure		Harnstoff	
Allantoin			
(bei Säugetieren außer Menschen und Anthropoiden)			

Einige spezielle Untersuchungen über den Abbau des Zuckers hat Rosenfeld vorgenommen. Er untersuchte die enzymatische Wirkung einiger tierischer Organe, wie Thymus, Leber, Niere und Milz auf thymonucleinsaures Natron, hexosephosphorsaures Calcium nach Lebedow und Saccharosephosphorsäure nach Neuberg. Die abgespaltene Phosphorsäure wurde quantitativ bestimmt. Die Versuche ergaben, daß die Organextrakte, resp. die in ihnen enthaltenen Fermente fast in gleicher Weise auf die verschiedenen Präparate einwirken. Zusatz von Insulin vergrößerte die Menge der abgespaltenen Phosphorsäure, aber die als anorganische Phosphorsäure in Freiheit gesetzten Mengen erreichten in keinem Falle den Gesamtbetrag der in den Präparaten enthaltenen Phosphorsäure. Wurden die Versuche mit aufgekochten Organextrakten angestellt, so konnte keine ins Gewicht fallende Spaltung beobachtet werden. Der von Robison beobachtete Selbstzerfall von Hexosediphosphat konnte also bei den Versuchen keine nennenswerte Rolle gespielt haben.

Die in der pflanzlichen Nucleinsäure enthaltene Pentose (d-Ribose) wird verbrannt. Über den Abbau des im tierischen Nucleinmolekül enthaltenen Zuckerkomplexes kann man nichts bestimmtes sagen; da die Natur dieses Komplexes, wie vermutet, eine Hexose ist, so vollzieht sich seine Aufspaltung in den gegebenen Bahnen des Zuckerstoffwechsels.

Herrn Professor Dr. Hahn möchte ich an dieser Stelle meinen ganz besonderen Dank aussprechen für die Überlassung des Themas, für sein liebenswürdiges und hilfsbereites Entgegenkommen, sowie für Übernahme des Referates.

Schrifttum.

Abderhalden-Schittenhelm, Hoppe-Seyler's Z. **47**, 452, 1906.
Abl, Anl. f. exper. Pathol. **74**, 119, 1913.
Altmann R., Anl. Anat. u. Physiol. 524, 1889.
Araki, Hoppe-Seyler's Z. **38**, 84, 1903.
Benedict, Journ. of biol. Chem. **20**, 629, 1915.
Benedict-Hitchecock, Journ. of. biol. Chem. **20**, 619, 1915.

Brugsch, Z. exper. Path. u. Ther. **1**, 419, 1905.
Brugsch-Rother, Klin. Woschr. **1**, 1729, 1923.
— Hoppe-Seyler's Z. **143**, 48, 1925.
Brugsch-Schittenhelm, Z. exper. Pathol. u. Ther. **5**, 24, 1908.
Burian-Schur, Hoppe-Seyler's Z. **80**, 241, 1900.
Dixon-Malcolm-Silva Thurlow, Ber. ü. d. ges. Physiol. u. exper. Pharmakol. **30**, 156, 1925.
— Ber. über d. ges. Physiol u. exper. Pharmakol. **30**, 157, 1925.
Dixon-Malcolm-Silva Thurlow, Ber. über d. ges. Physiol. u. exper. Pharmakol. **32**, 364, 1925.
— Ber. über d. ges. Physiol. u. exper. Pharmakol. **33**, 619, 1926.
Dohrn, Hoppe-Seyler's Z. **86**, 130, 1913.
Dresel-Ullmann, Z. exper. Med. **24**. 204, 1921.
Falta, Z. exper. Pathol. u. Ther. **15**, 356, 1914.
Falta-Thannhauser-Curtius, Arch. klin. Med. **143**, 186, 1923.
Fischer Emil, Untersuchungen in der Puringruppe 1882—1906, Berlin 1906.
Fleischmann-Salecker, Z. klin. Med. **80**, 456, 1914.
Gudzent, Z. klin. Med. **90**, 147, 1921.
Hahn-Haarmann, Z. f Biol. **85**. 3, 175, 1926.
Hahn-Lintzel, Z. f. Biol. 179, 1923.
Hahn-Schäfer, Z. f. Biol. **83**, 5/6, 511, 1925.
Handbuch der normalen und pathologischen Physiologie, **5**, 1928.
Harpuder, Hdb. d. Biochem. **8**, 590.
— Z. exper. Med. **42**, 1, 1924.
Hobraczewski, Hoppe-Seyler's Z. **144**, 1926.
— Monschr. Chem. **12**, 221, 1891.
Hoppe-Seyler, Hoppe-Seyler's Z. med. chem. Unters. H. **4**, 486, 1871.
Johnson-Coghill, Chem. Ztbl. **1**, 1189, 1926.
Jones, Hoppe-Seyler's Z. **60**, 161, 1905.
— Hoppe-Seyler's Z. **144**, 1926.
— Hoppe-Seyler's Z. **242**, 35,
Kossel A., Hoppe-Seyler's Z. **3**, 291, 1879.
— Hoppe-Seyler's Z **4**, 290, 1880.
— Hoppe-Seyler's Z. **5**, 152, 1881.
— Hoppe-Seyler's Z. **7**, 7, 1882.
— Hoppe-Seyler's Z. **10**, 250, 1886.
— Hoppe-Seyler's Z. **12**, 241, 1888.
Kraus-Oesterreicher, Kongr. f. inn. Med. **34**, 150, 1922.
Krauhs-E., Dtsch. Arch. klin. Med. **150**, 13, 1926.
Krüger-Schmid, Hoppe-Seyler's Z. **54**, 549, 1902.
Levene P. A. Hoppe-Seyler's Z. **32**, 541, 1901.
— Hoppe-Seyler's Z. **37**, 402, 1901.
— Hoppe-Seyler's Z. **38**, 80, 1903.
— Hoppe-Seyler's Z. **39**, 479, 1903.
— Hoppe-Seyler's Z. **43**, 199, 1904.
— Hoppe-Seyler's Z. **45**, 300, 1905.
Levene-La Forge, Hdb. d. norm. pathol. Physiol. „Stoffwechsel und Energiewechsel", **5**, 1928.
Levene-Jacobs, Berl. dtsch. chem. Ges. **41**, 2703, 1902.
— Berl. dtsch. chem. Ges. **42**, 335, 1198, 2102, 2469, 2474, 3274, 1909.
— Berl. dtsch. chem. Ges. **43**, 3142, 1910.
— Berl. dtsch. chem. Ges. **44**, 740, 1911.
— Hoppe-Seyler's Z. **49** (Steudel), 406, 1906.
Lo Monaco, Boll. Soc. Lancis degli ospedeli de Roma, **14**, (2) 102, 1894.
Marês, Pflüger's Arch. **134**, 59, 1910.
Michaelis, Z. exper. Path. u. Ther. **14**, 255, 1913.
Miescher, Hoppe-Seyler's Z. Med. chem. Unters. H. 4, 441, 1871.
— Verh. d. Naturf. Ges. Basel, **6**, 138, 1874.
Müller Fr. Über die chemischen Vorgänge bei Lösung der Pneumonie. Verh. d. Naturf. Ges. Basel, **13**, H. 2, Mai 1901.

Plosz P., Hoppe-Seyler's Z. Med. chem. Unters. **6**, 138, 1871.
Puhl, Biochem. Z. **78** 200, 1917.
Rosenberg, Z. exper. Pathol. u. Ther. **14**, 245, 1913.
Rosenfeld L., Chemie d. Zelle u. Gewebe **12**, H. 2, 101, 1925.
Schittenhelm, Hoppe-Seyler's Z. **144**, 1926.
— Hoppe-Seyler's Z. **45**, 161, 1905.
Schittenhelm-Harpuder, Z. exper. Med. **27**, 50, 1922.
Schmiedeberg O., Anl. f. exper. Pathol. **43**, 57, 1900.
Severin. Habilationsschrift Breslau 1916.
Simon-Böhm, Anl klin Med **70**, 604, 1901.
Sivén, Pflüger's Arch. **145**, 283, 1912.
Soetbeer-Ibrahin, Hoppe-Seyler's Z. **35**, 1, 1902.
Spitzer, Pflüger's Arch. **76**, 192. 1899.
— Hoppe-Seyler's Z. **144**, 1926.
Steudel H., Hoppe-Seyler's Z. **42**, 165, 1904.
— Hoppe-Seyler's Z. **43**, 402, 1904.
— Hoppe-Seyler's Z. **46**, 332, 1905.
Steudel-Ellinghaus, Arch. Kinderheilk. **78**, 41. 1926.
Stockvis, Donders Arch. Utrecht, **2**, 268, 1860
Thannhauser, Hoppe-Seyler's Z. **102**, 148, 1918.
Thannhauser-Blanco, Hoppe-Seyler's Z. **161**, 116. 1926.
Thannhauser-Bommes, Hoppe-Seyler's Z. **91**, 336, 1914.
Thannhauser-Czoniczer, Hoppe-Seyler's Z. **110**, 307, 1920.
Thannhauser-Dorfmüller, Hoppe-Seyler's Z. **104**, 65, 1918.
— Hdb. d. norm. pathol. Physiol. **5**, 1928.
Thannhauser-Lurz-v. Gara, Hoppe-Seyler's Z. **156**, 251, 1926.
Thannhauser-Ottenstein, Hoppe Seyler's Z. **114**, 17, 192.
Thannhauser-Schaber, Hoppe-Seylers Z. **115**, 170, 1921.
Waldschmitt-Leitz, Hoppe-Seyler's Z. **142**, 217, 1925.
Wichowski, Hoppe-Seyler's Z. **144**, 1926.
— Biochem. Z. **25**, 431, 1910.
Wichowski-Umber, Lehrbuch des Stoffwechsels. Hirschwald-Berlin 1925.
Wichowski-Wiener, Hofmeister's Beitr. **9**, 247, 295, 1907.
Wiener, Hoppe-Seyler's Z. **144**, 1926
— Arch. f. exper. Pathol. **42**, 373. 1899.
Wollaston, On gonty and wimary concretions, Pholosoph. Transact **2**, 386, 1797.

Lebenslauf

Am 20. November 1910 wurde ich als Sohn des Generalstabsobersten Filip Zoneff und seiner Ehefrau Anna, geb. Lavrowa, zu Rustschuk (Bulgarien) geboren. Dort besuchte ich die Volksschule. Im Jahre 1930 erhielt ich nach Besuch des Staatlichen Gymnasiums „Fürst Boris" in Rustschuk das Reifezeugnis. 1930 immatrikulierte ich an der Julius-Maximilians-Universität zu Würzburg. Nach einem Semester ging ich an die Universität Leipzig, und 1931 kam ich an die Ludwig-Maximilians-Universität München. Am 27. April 1934 bestand ich das zahnärztliche Staatsexamen.